

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1969

No

THÈSE

645

POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

REINERT, Philippe, Jacques, Marie

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 10 Juin 1938, à Saint-Germain-en-Laye

Présentée et soutenue publiquement le

**LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE
APPLIQUÉE A L'AUTO-IMMUNISATION THYROÏDIENNE.**

Président : Mr. F. SIGUIER, Professeur.

DUPUYTREN-COPY
9, Rue Dupuytren
Paris (6°)
1969

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1969

No

THÈSE

POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'État)

par

REINERT, Philippe, Jacques, Marie

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 10 Juin 1938, à Saint-Germain-en Laye

Présentée et soutenue publiquement le

LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE APPLIQUÉE A L'AUTO-IMMUNISATION THYROÏDIENNE.

Président : Mr. F. SIGUIER, Professeur.

DUPUYTREN-COPY
9, Rue Dupuytren
Paris (6°)
1969

1891

THÈSE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée par

BLANCKE Philippe, Docteur en Médecine



LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

APPLIQUÉE À L'AUTO-IMMUNISATION THYROÏDIENNE

Présentée à la Faculté de Médecine de la Université de Leiden

DEUTSCH-GOETTER

à la Faculté de Médecine

1891

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. ALAJOUANINE (T.), BENARD (H.), BERNARD (E.),
 BINET (L.), BULLIARD (H.), CATHALA (J.), CHABROL (E.),
 CHAILLEY-BERT (P.), CHEYMOL (J.), COSTE (F.), DEBRE
 (R.), DECHAUME (M.), GALLIARD (H.), GAUDARD D'ALLAI-
 NES (F. de), GENNES (L. de), GIROUD (A.), HAZARD (R.),
 HEUYER (G.), LACOMME (M.), LAMY (M.), LAROCHE (G.),
 LELONG (M.), LEVY (Mlle J.), LEVY-SOLAL (E.), LIAN
 (C.), MADURO (R.), MARCHAL (G.), MATHIEU (P.), MONOD
 (R.), MOREAU (R.), MOULONGUET (P.), PASTEUR VALLERY-
 RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D.), PIEDELIEVRE (R.), QUENU
 (J.), RENARD (G.), SENEQUE (J.), STROHL (A.), TANON
 (L.), TURPIN (R.), VERNE (J.).

DOYEN Georges BROUET

1er ASSESSEUR Daniel BARGETON

2me ASSESSEUR Jean GOSSET

PROFESSEURS :

A. - CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
-	HUARD (P.)
- à titre personnel	CABROL (Ch.)
- -	OLIVIER (G.)
Anatomie et Cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
- à titre personnel	NEZELOF (Ch.)
- -	ORCEL (L.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
- -	DESGREZ (P.)
- -	POLONOVSKI (J.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
- à titre personnel	CARTIER (P.)
- -	DREYFUS (J.-Cl.)

MM.

Biologie médicale, à titre personnel	BOURLIERE (F.)
- - - - -	HARTMANN (L.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
- - - - -	DJOURNO (A.)
- - - - -	DOGNON (A.)
- à titre personnel	KELLERSHOHN (L.)
- - - - -	GOUGEROT (L.)
- - - - -	ROUCAYROL (J.-Cl.)
Cancérologie expérimentale	MATHE (G.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histologie et Embryologie	COUJARD (R.)
- - - - -	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
- à titre personnel	RACADOT (J.)
Microbiologie	FASQUELLE (R.)
Bactériologie et Virologie	TOURNIER (P.)
- à titre personnel	BARBIER (P.)
Parasitologie	LARIVIERE (M.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
- à titre personnel	LOEPER (J.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.-R.)
- - - - -	LECHAT (P.)
Physiologie	BARGETON (D.)
- - - - -	MALMEJAC (J.)
- - - - -	PARROT (J.)
- à titre personnel	DEJOURS (P.)
Physiologie et biologie appliquée aux sports	SCHERRER (J.)

B. - CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

1^o - MÉDECINE

Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale, droit médical et déontologie	DEROBERT (L.)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie médicale	BUGE (A.)
- - - - -	BRICAIRE (H.)

MM.

Pathologie médicale	CORNET (A.)
- - - - -	HOUSSET (E.)
- - - - -	LAROCHE (Cl.)
- à titre personnel	AZERAD (E.)
- - - - -	BOUR (H.)
- - - - -	BROCARD (H.)
- - - - -	CARDLI (J.)
- - - - -	FACQUET (J.)
- - - - -	LAMBLING (A.)
- - - - -	LAUNAY (Cl.)
- - - - -	PAYET (M.)
- - - - -	PERRAULT (M.)
- - - - -	SIGUIER (F.)
- - - - -	WORMS (R.)
- - - - -	BOUVIER (J.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie & Thérapeutique générales	MAURICE (P.)
Thérapeutique	LAMOTTE (M.)
Thérapeutique appliquée	MARCHE (J.)

CHAIRES de CLINIQUES :

Clinique cardiologique (Boucicaut)	LENEGRE (J.)
- - - (Broussais)	SOULIE (P.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	DUPERRAT (F.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
- à titre personnel	BASTIN (R.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
- à titre personnel (neuro- psychiatrie)	PICHOT (P.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
- à titre personnel	LHERMITTE (F.)
Clinique de neuro-psychiatrie infan- tile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	BERNARD (J.)

MM.

Clinique des maladies du sang	
à titre personnel (hématol.)	ANDRÉ (R.)
-	BOUSSER (J.)
-	DREYFUS (B.)
(Bicêtre	DEPARIS (M.)
(Broussais	MILLIEZ (P.)
(Cochin	PEQUIGNOT (H.)
(Hôtel-Dieu	BARIETY (M.)
Cliniques médicales (Pitié	DREYFUS (G.)
(Saint-Antoine	BOUDIN (G.)
(-	CONTE (M.)
(-	KOURILSKY (R.)
Clinique médicale propédeutique	
(Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique thérapeutique médicale	
(Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique et séméiologie médicales	
(Antoine-Chantin)	DOMART (A.)
Séméiologie médicale (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
- (Pitié)	RAMBERT (P.)
- (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Clinique d'Hydrologie et de Climato-	
logie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
- à titre personnel	GIBERTON (A.)
Clinique médico-sociale du diabète	
sucré et des maladies métaboliques	
(Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER (J.)
- à titre personnel	RICHET (G.)
-	CROSNIER (J.)
Clinique de génétique médicale	
(Enfants-Malades)	ROYER (P.)
Clinique des maladies des enfants	
(Enfants-Malades)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique médicale infantile et de	
pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	BRISAUD (H.)
- à titre personnel	LESOBRE (R.)
Clinique de pédiatrie et de puéricul-	
ture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Hygiène et clinique de la première	
enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
- à titre personnel	POLONOVSKI (Cl.)

MM.

Clinique de pneumo-phtisiologie	
(Laënnec)	BROUET (G.)
- à titre personnel	KREIS (B.)
- - -	MEYER (A.)
Clinique de rééducation motrice	GROSSIORD (A.)
Electroradiologie	LEDOUX-LEBARD (M.)
-	LEFEBVRE (J.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
- à titre personnel	FISCHGOLD (H.)
- - -	TUBIANA (M.)
- - -	CHERIGIE (E.)
Clinique de rhumatologie médicale	
et sociale (Cochin)	DELBARRE (F.)
Clinique rhumatologique (Lariboisière)	SEZE (S. de)
Clinique toxicologique (Fernand-Widal)	GAULTIER (M.)

2°- CHIRURGIE

Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
- - -	KUSS (R.)
- - -	N...
- à titre personnel	RAMADIER (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	MORIN (P.)
Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale	MONSAINGEON (A.)

CHAIRES de CLINIQUES :

Clinique carcinologique	DENOIX (P.)
(Gustave-Roussy)	
Clinique carcinologique chirurgicale	
(Necker)	REDON (H.)
- à titre personnel	BREHANT (J.)
	(Beaujon LORTAT-JACOB (J.-L.)
	(- BAUMANN (J.)
	(Cochin LEGER (L.)
Cliniques chirurgicales	(Hôtel-Dieu PATEL (J.)
	(Saint-Antoine GOSSET (J.)
	(Salpêtrière SICARD (A.)
	(Tenon OLIVIER (Cl.)

MM.

Clinique thérapeutique chirurgicale	
(Vaugirard)	ROUX (M.)
Séméiologie et clinique chirurgicales	
(Broussais)	POILLEUX (F.)
- (Saint-Louis)	DEBEYRE (J.)
Clinique chirurgicale orthopédique et	
traumatologique (Cochin)	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
- (Foch)	PADOVANI (P.)
- (Beaujon)	CAUCHOIX (J.)
Clinique traumatologique et orthopé-	
dique (Raymond-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique de chirurgie infantile et	
orthopédique (Enfants-Malades)	FEVRE (M.)
- à titre personnel	CHIGOT (P.-L.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire	
(Broussais)	DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique	
(Laënnec)	MATHEY (J.)
- à titre personnel	GAUDARD D'ALLAINES (Cl.de)
Clinique chirurgicale et gynécologi-	
que (Broca)	HUGUIER (J.)
Clinique obstétricale (Baudelocque)	LEPAGE (F.)
- (Saint-Antoine)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologi-	
que (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
- à titre personnel	LEBEAU (J.)
Clinique ophtalmologique (Cochin)	BREGEAT (P.)
- (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	
(Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	CERNEA (P.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
- (Necker)	COUVELAIRE (R.)

C. - PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.

Anatomie	GILLOT (Cl.)
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Bactériologie	LE MINOR (L.)

MM.

	(CARTIER (P.)
Biochimie médicale	(GONNARD (P.)
	(NORDMANN (J.)
Chirurgie	CERBONNET (G.)
	(BESSIS (M.)
Hématologie	(BILSKI-PASQUIER (G.)
	(BLANCHER (G.)
Hygiène	(CORRE-HURST (Mme L.)
	(CECCAL (P.)
Médecine légale	(HADENGUE (A.)
	(FOURNIER (E.)
Médecine générale	AUSSANNAIRE (M.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G.)
Pédiatrie	ROSSIER (A.)
	(COURSAGET (J.)
Physique médicale	(GREMY (F.)
	(PELLERIN (P.)
	(DURAND (J.)
Physiologie	(GIRARD (Fr.)
	(HUGELIN (A.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Pharmacologie	SCHMITT (H.)

D. - PROFESSEURS DÉTACHÉS
DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

MM.

Pathologie chirurgicale.....RUDLER (J.) Pr. s. ch.

E. - PROFESSEURS ASSOCIÉS

MM.

Hormonologie	MORICARD (R.)
Statistique médicale et épidémiolo- gie	SCHWARTZ (D.)
Néphrologie	MAXWELL (M.)

Secrétaire général de la Faculté... M. LENA (J.)

Conseiller administratif Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur en Chef de la)

Bibliothèque,)

Conservateur du Musée) M. le Docteur HAHN (A.)

d'Histoire de la Médecine)

Conservateurs) Mme FORGET (F.),

) Mlles DUMAITRE (P.),

) LAURENT (H.),

) LE NOIR (G.)

Bibliothécaires (Mme CONTET (J.),

(Miles DUROZOY (M.-F.),

ROBERGE (D.).

(LE QUANG LINH (G.),

REUGE (M.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME , A MES ENFANTS

A MA MÈRE (In Memoriam)

A MON PÈRE

A MON ONCLE

A MON MAÎTRE

Monsieur le Professeur Fred SIGUIER

Qui m'a fait l'honneur de
présider cette thèse.

En remerciement de l'ensei-
gnement qu'il m'a donné
quand je fus son Externe,
puis son Interne.

En hommage de mon profond
respect.

A MON MAÎTRE

Monsieur le Professeur Agrégé Paul BERTHAUX

Qui m'a confié la réalisation de ce travail, et m'a initié à l'immunologie.

A MES MAÎTRES EN EXTERNAT

Docteur J.P. LAMARE

Docteur P. BOURGEOIS

Docteur J. BONNETTE

Professeur MOLLARET

Professeur VIC-DUPONT

Professeur FACQUET

A MES MAÎTRES EN INTERNAT

Docteur ROUQUÈS

Professeur AUSSANNAIRE

Professeur Julien MARIE

Professeur Agrégé A. HENNEQUET

Professeur Agrégé R. PERELMAN

Professeur Agrégé P. GODEAU

Professeur Agrégé ALAGILLE

INTRODUCTION

Depuis 1956, date à laquelle ROITT et DONIACH décelèrent la présence d'anticorps anti-thyroglobuline dans le sérum de patients atteints de maladie de HASHIMOTO, de nombreux auteurs ont admis l'existence de phénomènes immunologiques à l'origine de plusieurs affections thyroïdiennes acquises chez l'adulte et l'enfant.

On incrimina d'abord l'action nocive directe des auto-anticorps circulants :

- anti-thyroglobuline,
- anti-colloïde (CA₂),
- anti-microsomaux,

dont la fréquence devint de plus en plus grande avec la mise au point de techniques de plus en plus sensibles :

- hémagglutination,
- déviation du complément,
- immunofluorescence, etc...

Malheureusement, les données de la pathologie expérimentale devaient infirmer pour une grande part ces conceptions.

En effet, si ROSE et WITERBSKY démontrèrent que l'injection d'extraits thyroïdiens ou de thyroglobuline provoque chez l'animal l'apparition de lésions superposables à celles de la maladie de Hashimoto, les essais de transfert passif de telles lésions, par injection d'anticorps antithyroïdiens, même à doses énormes, ne provoquèrent que des modifications histo-

logiques minimales sans aucune mesure avec la thyroïdite expérimentale.

Il fallait donc admettre que ces auto-anticorps n'étaient pas les seuls responsables de cette thyroïdite et qu'ils n'en étaient peut-être que les simples témoins.

Plus récemment enfin, l'injection de lymphocytes d'animaux atteints de thyroïdite expérimentale s'avéra capable d'entraîner une telle thyroïdite chez l'animal receveur.

L'existence d'une hypersensibilité cellulaire à l'origine de ces lésions expérimentales était donc démontrée et amenait à rechercher des mécanismes identiques dans l'auto-immunisation thyroïdienne humaine, bien que l'on connaisse depuis longtemps la négativité des intra-dermo-réactions à la thyroglobuline dans les maladies de Hashimoto, par exemple.

En 1966, SOBORG et HALBERG en ont apporté la preuve en étudiant l'inhibition de la migration des macrophages provenant de 15 sujets atteints de Hashimoto : on sait, en effet, que l'inhibition de la migration des macrophages en présence de l'antigène est admise comme un bon test de l'hypersensibilité retardée.

A la lumière de ces travaux, il nous est apparu intéressant d'étudier la transformation lymphoblastique des lymphocytes circulants, chez les sujets porteurs d'affections thyroïdiennes acquises, cliniquement évidentes, mais aussi lorsqu'un taux élevé d'anticorps antithyroïdiens était découvert par hasard sans la moindre anomalie clinique.

I -- L'AUTO-IMMUNISATION DANS LES AFFECTIONS THYROÏDIENNES

L'importance des phénomènes d'auto-immunisation dans les thyroïdites humaines semble maintenant bien établie par deux ordres de faits :

- l'existence d'anticorps antithyroïdiens, mis en évidence par RAIH et DONIACH, qui seulement dans certains cas semblent avoir une action cyto-toxique ;

- la réalisation de thyroïdites expérimentales entraînant des lésions histologiques et la formation d'anticorps antithyroïdiens tout à fait semblables à certaines thyroïdites humaines et, en premier lieu, à la maladie de Hashimoto.

Nous étudierons successivement :

- les anticorps antithyroïdiens,
- et les thyroïdites expérimentales.

.. 4 ..

A/ - LES ANTICORPS ANTITHYROÏDIENS. *****

Découverts initialement dans la thyroïdite de Hashimoto, les anticorps antithyroïdiens furent mis en évidence dans la plupart des thyroïdopathies, au cours des quinze dernières années.

Trois systèmes antigéniques sont actuellement individualisés ; un quatrième, plus discuté, est en cours d'identification.

a) - La thyroalobuline.

Premier antigène trouvé, il entraîne la formation d'un anticorps spécifique pouvant être mis en évidence par :

- Précipitation en milieu liquide ou en gélose, qui n'est positive que pour un taux élevé d'anticorps.

- Hémagglutination passive, utilisant des hématies tannées soumises à l'action de la thyroglobuline : méthode 1.000 fois plus sensible.

- Agglutination de particules de latex envahies de thyroglobuline, n'ayant guère plus d'intérêt que la méthode précédente.

- Immunofluorescence indirecte, colorant uniquement les vésicules thyroïdiennes.

Ces anticorps ont une spécificité d'espèce et ne fixent pas le complément.

b) - Le deuxième système est constitué par la fraction microsomiale (antigène dit cellulaire) des cellules thyroïdiennes. Il semble s'agir d'une lipoprotéine des membranes microsomiales.

Cet antigène provoque l'apparition d'anticorps fixant le complément et entraîne une immunofluorescence cellulaire (cellules bordant les vésicules thyroïdiennes).

c)- Système CA₂.

Ce troisième antigène découvert plus récemment est lié à une substance se trouvant également dans la lumière folliculaire, mais cependant distinct de la thyroglobuline.

Il est mis en évidence par immunofluorescence indirecte et entraîne une fluorescence homogène de la colloïde, alors que les anticorps antithyroglobuline donnent une fluorescence granuleuse.

d)- L'anticorps cytotoxique.

Le sérum de sujets atteints de thyroïdites de Hashimoto possède un effet cytotoxique sur les cellules thyroïdiennes en culture. Cet effet peut être inhibé par le contact préalable avec les microsomes des cellules thyroïdiennes : on pouvait donc concevoir qu'il s'agissait de l'antigène fixant le complément, mais l'absence de parallélisme entre ces deux effets laisse penser qu'il s'agit d'un quatrième anticorps qui serait aussi responsable d'une partie de l'immunofluorescence cellulaire.

Où rencontre-t-on des auto-anticorps ?

La fréquence avec laquelle sont retrouvés des résultats positifs dépend, bien sûr, du nombre et de la sensibilité des méthodes utilisées.

Nous nous référerons encore aux travaux de ROITT et DONIACH, comportant plus de 1.800 cas d'affections thyroïdiennes étudiées simultanément par :

- hémagglutination passive,

- fixation du complément,
- et immunofluorescence.

= Dans les thyroïdites chroniques, une des réactions est positive dans 99,7 % ; dans 80 % des cas, une des réactions d'hémagglutination et de fixation du complément au moins est très positive :

1/25.000 pour l'hémagglutination,

1/64 pour la fixation du complément.

= Dans le myxoedème, la fréquence des résultats positifs atteint 93,4 % : dans 40 %, une des deux réactions précitées, au moins, est fortement positive.

= Dans la maladie de Basedow, le taux est de 85 % ; une des réactions n'est fortement positive que pour 17,8 % des cas.

= Dans les goitres nodulaires, une des réactions n'est positive que dans 48,6 % des cas : 2 % seulement des goitres ont une réaction très positive.

= Dans les cancers thyroïdiens, le pourcentage est de 44,8 % , 10,7 % étant seulement très positifs.

= D'une façon générale, on constate qu'une réaction, à la condition d'être fortement positive, possèdera une réelle valeur pour le diagnostic d'hypo ou d'hyperthyroïdie, les réactions faibles ou moyennes pouvant se rencontrer dans un grand nombre de cas.

Lors des recherches systématiques, les études systématiques ont montré que la fréquence des résultats positifs augmentait jusque vers 60 ans et était plus grande chez les femmes que chez les hommes. Ainsi, à l'Hôpital d'Ivry, sur 653 femmes âgées de plus de 65 ans et cliniquement indemnes de maladies

thyroïdiennes, il fut trouvé des résultats positifs dans 124 cas (soit 19 %) ; dans 5 cas seulement, le taux d'héماغglutination était égal ou supérieur à 1/25.000.

Dans les familles de malades atteints d'affection thyroïdienne, deux constatations s'imposent :

1/- la fréquence tout à fait remarquable avec laquelle on découvre une thyroïdite, un myxoedème ou une hyperthyroïdie ;

2/- une fréquence encore plus élevée d'anticorps anti-thyroïdiens.

Ainsi, DONIACH et ROITT ont étudié 214 parents de 66 sujets atteints de maladie de Hashimoto : ils ont obtenu des résultats positifs chez :

- 66 % des ascendants,
- 55 % de la fratrie,
- 31 % des descendants.

Dans la même série, il existait 3 myxoedèmes, 12 Basedow, 26 Hashimoto dont 6 seulement avaient une expression clinique.

- Dans les maladies non thyroïdiennes :

Le fait le plus remarquable est la grande fréquence des résultats positifs dans la maladie de Biermer : les anticorps y sont retrouvés en effet dans 60 % des cas.

Réciproquement, un tiers d'hypothyroïdiens possèdent des anticorps anti-muqueuse gastrique.

Ces mêmes anticorps sont retrouvés aussi parfois chez les diabétiques, les Addison non tuberculeux, les périarthrites chroniques évolutives, certaines cirrhoses idiopathiques de la femme ; plus rarement, le lupus érythémateux, la myasthénie, enfin 20 % des mongoliens âgés de plus de 10 ans.

Quels types de lésions histologiques thyroïdiennes traduisent les anticorps antithyroïdiens ?

Dans l'état actuel des choses, il semble difficile d'établir une corrélation stricte pour deux raisons :

1/- Il est difficile d'effectuer une biopsie thyroïdienne pour la simple découverte d'anticorps antithyroïdiens.

2/- Seule une étude histologique complète de la glande permet de mettre en évidence l'extrême fréquence des foyers lymphoplasmocytaires de "thyroïdite focale".

En effet, on sait que ces lésions atteignent 50 % des femmes d'âge moyen, qu'elles sont plus fréquentes chez la femme que chez l'homme et que leur fréquence augmente pour atteindre un maximum vers l'âge de 60 ans. On est donc tenté d'établir un parallèle statistique avec le taux des anticorps.

Il est significatif de constater qu'avant la découverte des anticorps, WELLSCH, en 1930, et SLOPER, en 1953, avaient insisté sur la fréquence des thyroïdites focales chez l'addisonien. Les mêmes faits furent signalés pour la maladie de Biermer par BASTENIE, en 1944, puis WILLIAM et DONIACH, en 1962.

Plus récemment, enfin :

- ANDERSON et GRAY, en 1959, ont montré qu'il existait des lésions de thyroïdite focale chez les sujets porteurs d'une réaction de déviation du complément positive.

- BUCHANAN, en 1962, a prouvé l'existence d'une corrélation entre l'importance des foyers lympho-plasmocytaires et le taux des anticorps anti-thyréglobuline dans la maladie de Basedow, l'adénome toxique et le goitre nodulaire.

A la lumière de ces premiers résultats, on est donc tenté d'admettre que les anticorps antithyroïdiens vont de pair avec une thyroïdite lympho-plasmocytaire

- clinique,
- ou seulement histologique,

dont ils peuvent être la conséquence, la cause ou les simples témoins.

La réalisation de thyroïdites expérimentales devait permettre de préciser les rapports unissant ces deux faits.

A / - LES THYROIDITES EXPERIMENTALES.

= Pour la première fois, WITEBSKY, en 1955, a montré que des injections répétées au lapin d'extrait salin de corps thyroïde de lapin, pouvant provenir de son propre corps thyroïde, entraînaient la production d'auto-anticorps fixant le complément et donnant une réaction d'hémagglutination positive avec la thyroglobuline ; il n'apparaît cependant pas de lésion évidente du corps thyroïde.

= Si l'on répète l'expérience en y associant, cette fois, l'adjuvant de Freund, on obtient au niveau du corps thyroïde des lésions inflammatoires avec infiltrats lympho-plasmocytaires réalisant des aspects semblables à certaines thyroïdites humaines. Simultanément, apparaissent dans la circulation des anticorps

- anti-thyroglobuline,
- et fixant le complément,

sans que l'on puisse déceler d'anticorps microsomiaux et cytotoxiques.

= Des résultats analogues sont obtenus en utilisant une préparation de thyroglobuline purifiée additionnée d'adjuvant de Freund.

= Les mêmes faits furent constatés chez la souris, la chauve-souris, le cobaye, le chien, la chèvre et surtout le singe :

En 1965, ROSE et SKELTON obtinrent, par 5 injections (mensuelles) de thyroïde associée à l'adjuvant de Freund, chez le Rhesus, une thyroïdite très proche de la thyroïdite humaine. En effet, outre la thyroïdite lymphocytaire histologique, il existait dans le sérum :

- des anticorps antithyroglobuline et déviant le complément,
- mais aussi des anticorps antimicrosomiaux

et cytotoxiques pour les cellules thyroïdiennes de singe en culture.

Ces mêmes auteurs retrouvèrent, par injection intradermique de thyroglobuline, une hypersensibilité retardée qui avait déjà été observée chez le lapin par ROSE et WITEBSKY.

Les réactions cutanées d'hypersensibilité cellulaire semblent traduire plus fidèlement le degré d'atteinte de la glande que le taux des anticorps circulants, et progressivement on accorda une responsabilité de plus en plus grande à l'hypersensibilité cellulaire, dans le mécanisme de la thyroïdite expérimentale.

Les essais de transfert passif vinrent pleinement confirmer cette hypothèse :

L'injection de sérum riche en anticorps provenant de lapins porteurs de thyroïdites, à des animaux sains, est incapable de faire apparaître des lésions thyroïdiennes, même lorsque les anticorps sont injectés dans la glande elle-même.

Par contre, le transfert passif de cellules lymphoïdes provenant d'un animal atteint de thyroïdite est, lui, capable de provoquer une thyroïdite identique.

Ces mêmes cellules lymphoïdes peuvent inhiber et entraîner la destruction de cellules thyroïdiennes en culture.

Au terme de ces constatations, on peut donc affirmer le rôle primordial de l'hypersensibilité cellulaire dans les thyroïdites expérimentales ; le rôle toxique des anticorps n'ayant été prouvé qu'in vitro, chez le singe seulement, ne semble que tout à fait accessoire.

Comparaison entre les thyroïdites humaines et expérimentales

La ressemblance entre les lésions histologiques et les signes sérologiques des thyroïdites humaines et expérimentales apparaît à première vue marquée.

Plusieurs discordances cependant ont semblé exister :

1)- Dans l'évolutivité :

La maladie expérimentale est d'allure subaiguë et guérit chez le lapin, par exemple, en quelques semaines sans laisser de déficit endocrinien.

En pathologie humaine, par contre, les lésions de thyroïdite focale peuvent évoluer et aboutir parfois à une destruction complète de la glande.

2)- Dans l'aspect histologique lui-même.

Les thyroïdites humaines, outre les infiltrats lympho-plasmocytaires simples, s'accompagnent presque toujours de centres germinatifs, même lorsqu'il s'agit de lésions focales limitées.

Ces centres germinatifs sont, d'une façon générale, le témoin d'une réaction immunitaire, comme on peut les rencontrer dans la rate ou les ganglions, après une stimulation antigénique quelconque.

Dans les thyroïdites expérimentales, les centres germinatifs n'existent pas.

Des remarques, cependant, s'imposent à propos de ces deux divergences :

1/- Quant à l'évolutivité des thyroïdites expérimentales.

Les stimulations antigéniques chez l'animal n'ont aucun caractère permanent : il peut donc

sembler naturel que la thyroïdite cesse avec la stimulation.

Par contre, lorsque la stimulation est répétée de nombreux mois, chez le singe, par exemple, on voit s'installer alors une dégénérescence fibreuse réalisant un véritable myxoedème expérimental, rejoignant ainsi l'évolution de certaines thyroïdites humaines.

2/- L'existence de centres germinatifs prouverait qu'il existe un antigène responsable intrathyroïdien.

D'ailleurs, chez l'animal, ANDERSON a obtenu une thyroïdite à centres germinatifs par injection intra-thyroïdienne, à des hybrides F_1 , de lymphocytes de l'un des parents chez qui avait été provoquée une thyroïdite.

On peut s'étonner que n'ait pas été tentée, à notre connaissance, l'injection intrathyroïdienne d'extraits thyroïdiens et d'adjuvants de Freund, qui, si ces conceptions sont exactes, devrait entraîner une thyroïdite à centres germinatifs.

Au terme de ce chapitre, les discordances entre la maladie humaine et les thyroïdites expérimentales peuvent donc s'expliquer sans qu'il soit nécessaire d'admettre pour chacune un mécanisme fondamentalement différent.

Ainsi est né le concept de thyroïdite anté-immune, regroupant un certain nombre d'affections thyroïdiennes acquises ayant toutes en commun deux caractères :

- une infiltration lympho-plasmocytaire,
- des anticorps antithyroïdiens circulants.

Pour certains auteurs, cette thyroïdite évoluerait de l'hypertrophie goitreuse vers l'atrophie classique, le stade initial pouvant parfois s'accompagner d'un hyperfonctionnement thyroïdien, dont la

maladie de Basedow ne serait qu'une variante évolutive.

Tantôt cette thyroïdite serait diffuse et pourrait entraîner une maladie de Hashimoto, une thyroïdite de Riedel, un myxoedème, voire un goitre ou un Basedow.

Tantôt elle serait focale latente, non progressive, et ne se manifesterait alors que par la présence d'anticorps circulants.

Cette histoire naturelle des thyroïdites chroniques n'a la valeur que d'un schéma :

Il semble rare, en effet, de constater le passage d'un goitre au myxoedème spontané de l'adulte, d'un Hashimoto à une insuffisance thyroïdienne.

On doit donc admettre que différents modes de réaction à une même stimulation antigénique sont possibles suivant les individus, qu'il s'agisse :

- d'une thyroïdite lymphocytaire,
- d'un Hashimoto ou d'un myxoedème,

la maladie de Basedow ne constituant qu'un facteur prédisposant à la thyroïdite auto-immune.

PATHOGENIE DE LA THYROÏDITE AUTO-IMMUNE

Plusieurs théories ont été proposées, pouvant se grouper en deux chapitres :

- ou apparaît un antigène n'ayant pas été, jusque là, en contact avec le système immunitaire du sujet ;
- ou il s'agit d'une atteinte du système immunitaire.

1/- Théorie du nouvel antigène.

a)- La thyroglobuline "antigène inaccessible".

La thyroglobuline est normalement stockée dans le colloïde des vésicules thyroïdiennes et n'avait pas été retrouvée dans le reste de l'organisme sous cette forme jusqu'à ces dernières années : on peut donc concevoir qu'elle n'est jamais entrée en contact avec les cellules immuno-compétentes, condition sine qua non de la tolérance immunitaire.

Si, pour une raison quelconque, la thyroglobuline pénètre dans la circulation générale, elle se comportera comme une substance étrangère à l'organisme.

Cette séduisante théorie vient de connaître, par les travaux récents de ROITT et DANIEL (Mai 1967), un démenti formel : par dosage immunologique, ces auteurs ont mis en évidence de faibles quantités de thyroglobuline dans les voies lymphatiques drainant la thyroïde d'un sujet normal.

b)- Anomalies de structure de la thyroglobuline.

Pour certains auteurs, la formation d'anticorps serait due à une modification de structure d'un

composant de la thyroïde normale, par exemple la thyroglobuline, qui n'en perdrait pas pour autant ses effets hormonaux.

Il faut remarquer :

- qu'aucune anomalie de structure de la thyroglobuline n'a pu être mise en évidence à ce jour,

- et surtout que la multiplicité des anticorps mis en évidence laisse présumer de multiples antigènes dont chacun, dans ce cas, devrait subir une modification structurale.

c)- Fuite massive de la thyroglobuline.

Si, comme nous l'avons vu, la thyroglobuline franchit la barrière folliculaire physiologiquement, en faible quantité, on peut concevoir qu'une fuite massive soit à même de déclencher une réaction antigénique.

A l'appui de cette théorie, cette fuite de thyroglobuline a été constatée dans le Hashimodo, sans que l'on en connaisse la raison initiale.

Des faits analogues ont été constatés :

- dans la thyroïdite de Quervain, expliquant ainsi la freination hypophysaire, si souvent constatée ;

- le cancer thyroïdien ;

- enfin, dans les suites d'un traitement chirurgical ou radio-isotopique de la glande.

Dans ces trois derniers cas, on conçoit facilement qu'il se produise une effraction d'un grand nombre de vésicules thyroïdiennes, libérant ainsi la thyroglobuline.

Les anticorps anti-thyroglobuline peuvent atteindre des taux considérables, mais ils ne sont que transitoires, et il n'apparaît qu'exceptionnel-

lement une thyroïdite secondaire évolutive.

En résumé : une fuite massive d'antigène est peut-être capable de faire apparaître des anticorps, mais ne peut provoquer une thyroïdite à elle seule.

De l'insuffisance de ces trois théories, est née la quatrième :

2/- Théorie du dérèglement immunitaire.

Il s'agit, cette fois, d'attribuer la rupture de la tolérance immunitaire, non à un antigène, mais à une réponse aberrante des cellules immuno-compétentes. A l'appui de cette théorie, plaident les associations avec la maladie de Biermer, la myasthénie, le lupus.

Bien que la nature de cette aberration soit inconnue, il est très vraisemblable qu'elle soit liée à un facteur génétique.

Il suffit de souligner la grande fréquence d'autres anomalies thyroïdiennes dans la famille et d'autres maladies auto-immunes isolées ou associées.

MÉCANISME DE LA THYRÉOÏDITE AUTO-IMMUNE

Si les thyroïdites expérimentales, comme le prouve leur transfert passif par les cellules lymphoïdes, relèvent essentiellement de l'hypersensibilité retardée, il restait à prouver qu'il en était de même pour la thyroïdite auto-immune humaine.

Leur ressemblance sérique et histologique devait naturellement faire concevoir un même mécanisme, d'autant que l'infiltration lymphoïde est un phénomène constant dans les réactions d'hypersensibilité cellulaire.

Pour étudier l'hypersensibilité retardée chez l'homme, nous ne disposons que d'un nombre restreint de tests :

1/- Les tests cutanés : Intra-dermo-réactions.

C'est BUCHANAN (1958), le premier sur 33 porteurs d'affections thyroïdiennes (11 Hashimoto, 8 myxoedèmes, 7 thyrotoxicoses, 3 goîtres, 1 cancer thyroïdien), pratiqua des intra-dermo-réactions à l'extrait salin de thyroïde humaine (prélèvement chirurgical d'un goitre thyrotoxique), cultivé en milieu stérile pendant 7 jours.

Les résultats furent positifs pour la plupart des myxoedèmes et des Hashimoto.

Malheureusement, la plupart des tentatives effectuées depuis ne furent pas significatives, et BUCHANAN admit, deux ans plus tard, que les positivités relevaient :

- soit de phénomènes d'histo-compatibilité,
- soit de souillures bactériennes,
- soit enfin d'un phénomène d'Arthus lié aux anticorps circulants.

Pour notre part, nous nous sommes limité aux extraits thyroïdiens animaux, par crainte d'une éventuelle hépatite d'inoculation. Les I.D. faites ainsi chez nos patients furent constamment négatives.

2/- Inhibition de la migration des macrophages.

Cette méthode, décrite pour la première fois par RICH et LEWIS, semble être un témoin fidèle de l'hypersensibilité retardée, en particulier dans les réactions à la tuberculine où elle est parallèle aux intra-dermo-réactions.

En 1962, SOBORG et HALBERG étudièrent la migration des macrophages en présence d'une suspension d'extraits thyroïdiens, chez 15 maladies de Hashimoto.

L'inhibition de la migration des macrophages ne fut jamais proportionnelle aux taux des anticorps. Elle fut élevée dans 6 cas,
normale dans 3 cas,
faible dans 6 cas.

Ces auteurs en concluent que si l'hypersensibilité retardée joue un grand rôle dans les thyroïdites, cette hypersensibilité peut être inhibée ou stimulée suivant le stade de la maladie.

(Ceci a été démontré dans l'allergie brucellienne et tuberculinique où la migration des macrophages semble initialement facilitée.)

3/- Technique des fenêtres cutanées.

En 1965, W. JURGENSEN et S. HALBERG étudièrent l'élévation du taux des basophiles dans un exsudat cutané provoqué par excision épidermique et application d'extraits thyroïdiens. L'étude porte sur 7 Hashimoto ; la lecture s'effectue 48 heures plus tard.

Le pourcentage des basophiles fut compris entre 2 % et 8,5 %, alors que le pourcentage des

témoins ne dépassa pas 1 %.

Pour les auteurs, cette technique serait aussi spécifique de l'hypersensibilité cellulaire.

Nous ne ferons que citer :

a/- l'immuno-cyto-adhérence (ou technique des Rosettes), mise au point par FREI et CRUCHAUD, qui n'a pas le mérite d'être spécifique de l'hypersensibilité cellulaire.

b/- L'action toxique des lymphocytes sur les cultures de tissu thyroïdien.

Si cette méthode a donné de nombreux résultats positifs en pathologie expérimentale en utilisant des lignées pures, il est bien évident qu'en pathologie humaine on se heurte d'emblée aux phénomènes :

- d'histo-compatibilité,
- et d'inhibition allogénique,

rendant ininterprétable toute action cytotoxique des lymphocytes (BJORKUND, LUNG, ROSE).

Au terme de ces travaux sur l'hypersensibilité retardée dans les thyroïdites, il nous a semblé utile d'étudier le test de transformation lymphoblastique, considéré maintenant comme le moyen le plus sensible pour explorer cette hypersensibilité.

II - LE TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

HISTORIQUE

C'est en 1960 que P.C. NOWELL a pu démontrer que le petit lymphocyte, longtemps considéré comme une cellule mûre ayant atteint la fin de son évolution, était capable de subir une transformation complète sous l'influence de la phyto-hémagglutinine, substance extraite du haricot rouge et connue depuis le début du siècle pour ses propriétés hémagglutinantes.

En effet, après 48 heures de culture, on voit le lymphocyte devenir une grande cellule pyroninophile de 20 à 30 microns de diamètre, au cytoplasme fortement basophile, au noyau volumineux, arrondi, riche en chromatine, nucléolé et souvent en mitose.

Cet aspect est tout à fait identique à la "grande cellule blastique" décrite dans les réactions immunitaires. Les deux sont douées d'une activité mitotique intense, ainsi que le prouvent :

- la fréquence des mitoses,
- et les explorations autoradiographiques mettant en évidence une accélération de la synthèse de l'ADN de l'ARN, enfin des protéines.

A partir de cette découverte fondamentale, et connaissant le rôle capital joué par le système lymphoïde dans les réactions immunitaires,

SHRECK R. (1963), en Amérique,
PERMAN G. (1963), en Angleterre,

eurent l'idée de vérifier si un antigène connu comme la tuberculine avait la même propriété que la P.H.A..

S'ils obtiennent des taux de transformation bien moindres qu'avec la P.H.A., le pourcentage de cellules blastiques était parallèle à la positivité des intra-dermo-réactions à la tuberculine.

Depuis ces travaux initiaux, on a découvert de multiples activateurs des cellules lymphoïdes :

- activateurs non spécifiques : ne nécessitant pas une stimulation antigénique préalable ;
- activateurs spécifiques n'agissant que sur les lymphocytes d'un sujet préalablement sensibilisé.

A - LES ACTIVATEURS NON SPECIFIQUES.

C'est avant tout la phyto-hémagglutinine qui entraîne, en 3 jours, une transformation d'au moins 60 % des lymphocytes survivants.

Cette P.H.A. est constituée de trois principes :

- L'hémagglutinine, la leuco-agglutinine agglutinant les leucocytes en milieu salin et inhibée par l'adjonction d'EDTA, et la leucoestimuline, responsable de la transformation blastique.

- Si l'on a pu séparer l'activité hémagglutinante, il n'a pas été possible, jusqu'à ce jour, d'isoler les activités leuco-agglutinantes et leuco-stimulatrices.

Les autres substances non spécifiques sont :

- l'antistreptolysine S,
- l'exotoxine staphylococcique,
- la phytolaque ou "phytolacea americana",

dont l'extrait est moins leuco-agglutinant que la P.H.A., mais dont le pouvoir leucostimulant est moindre.

Si les lymphocytes d'un homme normal subissent une transformation blastique sous l'influence de ces activateurs non spécifiques, il n'en va pas de même dans un certain nombre d'états pathologiques qui sont principalement :

- la maladie de Hodgkin (HELLMAN, 1966),
- la leucémie lymphoïde chronique (SCHREK R., 1961),
- la maladie de Besnier-Boëck -Schauman (BUCKLEY),
- le syndrome de Gougerot-Sjögren (LEVENTHAL, 1967),
- l'ataxie télangiectasique (OPPENHEIM, 1966),
- l'insuffisance rénale chronique,
- les grandes cachexies cancéreuses, en particulier,
- le grand âge,
- enfin certaines thérapeutiques (corticoïdes, phénylbutazone, indométhacine...) auraient le même effet.

Dans tous ces cas, le pourcentage de transformation blastique peut être diminué, voire effondré.

Il est tout à fait remarquable de constater que cette perte de la réactivité du lymphocyte se rencontre dans toutes les maladies où l'on assiste à une diminution ou à une disparition des réactions cutanées d'hypersensibilité retardée (tuberculine, candidine, DNCB).

L'étude des activateurs spécifiques vient pleinement préciser ces faits.

B - LES ACTIVATEURS SPECIFIQUES.

Le premier utilisé fut la tuberculine. De nombreux auteurs constatèrent que le taux de transformation variait entre 5 et 20 % des cellules examinées, chez les sujets ayant des tests tuberculiniques positifs.

Depuis, de nombreux antigènes testés ont prouvé leur pouvoir blastogénique :

- antigènes streptococciques (non pas l'antistreptolysine S, mais la streptolysine s et la protéine M) (KY et HALPERN, 1966) ;
- antigènes viraux : rougeole,
vaccine,
oreillons (CAWLING);
- antigènes mycosiques (candidose) ;
- antigènes parasitaires.

= On a voulu ainsi faire du test de transformation lymphoblastique, un moyen général pour céder la cause d'un état allergique.

Il a été ainsi possible de relier à une agression streptococcique certaines néphropathies de l'adulte en testant les lymphocytes en présence de protéine M extraite du streptocoque (LAGRUE, 1968).

Au cours des pollinoses, LYCETTE (1963) et ZEITZ ont retrouvé une action blastogénique spécifique du pollen.

Dans l'allergie médicamenteuse, des résultats souvent contradictoires furent rapportés : les positivités les plus franches furent obtenues avec la pénicilline, la phénytoïne, l'aspirine (HALPERN).

Cependant, plusieurs auteurs (RIPPS C.S., VISCHER et SARKANY), en utilisant le marquage à la thymidine tritiée, ne retrouvèrent qu'une positivité dans un nombre fort réduit de cas.

= Dans un domaine bien différent, il faut citer la remarquable action blastogénique des lymphocytes hétérologues pouvant entraîner des taux de l'ordre de 90 %. Cette réaction des lymphocytes est d'autant plus grande que l'histo-compatibilité entre les deux sujets est mauvaise : on devine d'emblée l'intérêt de cette méthode pour la prévention du rejet des greffes.

= Après avoir étudié les antigènes bactériens et viraux, les allergènes et l'histo-compatibilité, le test de transformation lymphoblastique s'est maintenant étendu aux maladies auto-immunes :

Ainsi, PATRUCCO (1967) mit en évidence l'action blastogénique de l'ADN sur les lymphocytes de sujets présentant un lupus érythémateux disséminé : nous avons pu vérifier ces faits huit fois, aussi bien lors des poussées évolutives de la maladie qu'en l'absence de cellules de Hargraves.

FOWLER, en 1966, étudia la réactivité des lymphocytes provenant d'encéphalite, de sclérose en plaques, de syndrome de Guillain et Barré : l'antigène utilisé était la myéline. Les résultats obtenus furent peu significatifs et non confirmés ultérieurement.

Plus récemment, par contre, au cours de sclérose en plaques, on a décrit des taux de transformation de l'ordre de 10 %, en utilisant, cette fois, le liquide céphalo-rachidien d'un sujet normal comme antigène.

En 1962, deux cas d'encéphalite aiguë disséminée furent étudiés en présence de myéline : les taux observés furent de l'ordre de 25 %.

Dans la maladie de Biermer, les antigènes utilisés avec succès furent le suc gastrique normal, le facteur intrinsèque humain et un extrait de muqueuse gastrique (M. GUIGAN, 1967).

Bien que l'indice de transformation ne soit jamais très élevé dans les deux-tiers des Biermer étudiés, il fut significatif.

Par la même méthode, on a étudié les hépatites et surtout les cirrhoses post-hépatitiques, en utilisant un fragment hépatique prélevé par biopsie chez le malade lui-même.

FORBES (1965), enfin, étudia l'action blastogénique de la thyroglobuline sur les lymphocytes de sujets atteints de maladie de Hashimoto.

Il prouva en même temps :

- que les lymphocytes sécrétaient in vivo des anticorps anti-thyroglobuline sous l'action de la thyroglobuline,

- mais que cette sécrétion était bien supérieure sous l'influence de la P.H.A..

ZAVALETA (1967) retrouva une action identique chez le lapin présentant une thyroïdite expérimentale.

= Pour la plupart des autres maladies dites auto-immunes, rectocolite hémorragique, myasthénie, le test de transformation lymphoblastique n'a pas encore apporté de résultats concluants, à ce jour.

MECANISME ET SIGNIFICATION DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

Sans vouloir énumérer les multiples techniques de prélèvement, de séparation et de culture des lymphocytes qui ont été de nombreuses fois décrites, en particulier dans les articles de :

- COOPER E.H. et AMIEL : Revue Française d'Etudes cliniques et biologiques, 10, 469,

- ELVES M.W. : "The lymphocytes", 1966, Lloyd LTD, Londres,

nous voudrions insister sur les progrès récents effectués dans la compréhension

- de son mécanisme,
- et de sa signification.

n o

LE MECANISME *****

Il semble ici fondamental d'opposer les substances spécifiques et non spécifiques.

1/- Pour la phyto-héماغglutinine.

Il a été prouvé que l'action blastogénique n'était pas en rapport avec son action héماغglutinante ; par contre, il n'a pas été possible de séparer l'action leuco-agglutinante et blastogénique.

Depuis NEWSOME (1963), on sait que le temps d'exposition nécessaire peut être extrêmement bref, de l'ordre de cinq minutes pour une concentration élevée.

En 1967, CARON G.A., en employant des sérums

anti-PHA, a prouvé que 10 secondes suffisaient pour déclencher la transformation lymphoblastique.

Trois hypothèses permettent d'expliquer son action sur le lymphocyte.

1 - La PHA agirait en inhibant un facteur plasmatique qui "réprimerait" la transformation lymphoblastique.

JOHNSON (1965) avait obtenu une forte transformation en cultivant les lymphocytes dans un milieu sans plasma autologue.

Mais ce nouveau plasma ne contenait-il pas des antigènes d'histo-compatibilité ?

2 - Pour d'autres auteurs, la PHA n'agirait pas par un mécanisme immunologique, mais en lésant les membranes cellulaires des lymphocytes. La puissante action blastogénique des sérums anti-lymphocytaires en serait la meilleure preuve.

Un effet analogue aurait été retrouvé avec certains complexes antigènes - anticorps dits cytophiles qui, une fois fixés à la membrane du lymphocyte, auraient une action blastogénique.

3 - Depuis LYCETTE (1963), on a voulu admettre qu'il pouvait s'agir d'un mécanisme immunologique : l'injection intra-dermique, chez l'homme, détermine une infiltration lymphocytaire rapide et intense avec formation de grandes cellules blastiques comparables à l'intra-dermo-réaction tuberculinique.

Action intra-cellulaire

On sait, depuis 1967, que l'ARN cytoplasmique du lymphocyte soumis à la PHA est très rapidement détruit (en moins d'une heure). Ce lymphocyte synthétise alors un ARN de type messager, ce qui n'est pas le cas, nous le reverrons, pour les stimulations spécifiques.

COOPER et RUBIN pensent que la PHA serait un

dépresseur de la synthèse de l'ARN messager, ce qui entraînerait cette activité mitotique intense.

Dernière acquisition, enfin, la PHA agit directement sur le lymphocyte sans passer par l'intermédiaire du système réticulo-endothélial :

EVAN, en Juin 1968, par plusieurs procédés de séparation successifs, obtint des suspensions pures de lymphocytes capables de se transformer en blastes sous l'influence de la PHA. Les stimulateurs spécifiques, par contre, n'avaient alors aucun effet, tandis que l'adjonction de macrophages à la culture restaurait immédiatement leur pouvoir blastogénique.

En résumé, la PHA et les autres agents blastogéniques aspécifiques agiraient directement sur le lymphocyte en provoquant une synthèse intense d'ARN messager.

2/- Mécanisme des activateurs spécifiques.

Agissant par définition sur des lymphocytes déjà sensibilisés, ils entraînent toujours un taux de transformation beaucoup plus faible.

On peut donc imaginer :

- que leur pouvoir mitogénique est qualitativement plus faible ;

- mais aussi qu'il existe une "spécialisation" du lymphocyte à mémoire et que seuls les lymphocytes issus d'un même clone seraient capables de se sensibiliser à un antigène et de se transformer ensuite à son contact.

Les constatations des transferts passifs battent en brèche cette conception : on sait, en effet, si l'on admet l'identité entre la cellule blastique et l'immunoblaste de l'hypersensibilité retardée, que les lymphocytes du donneur peuvent entraîner la transformation blastique des lymphocytes du receveur

lorsque l'antigène est réintroduit par voie sous-cutanée, par exemple, entraînant un amas local de cellules blastiques.

A l'inverse de la phyto-hémagglutinine, ils entraînent la synthèse d'ARN subnormal et non d'ARN messager.

Enfin et surtout, ils n'agissent pleinement qu'en présence de macrophages qui semblent être les intermédiaires de toute sensibilisation et de toute réponse secondaire pour l'hypersensibilité retardée du moins. Une membrane semi-perméable séparant les lymphocytes des macrophages ne restaure pas la blastogénèse : un contact direct s'avère donc nécessaire pour que la transformation blastique puisse avoir lieu.

Plusieurs travaux ont affirmé le rôle inhibiteur des corticoïdes sur la blastogénèse. On peut donc supposer que les stimulateurs agiraient sur la membrane lysosomiale (en détruisant la membrane lysosomiale ?), puisque les corticoïdes la stabilisent.

Malgré ces données nombreuses et diverses, il ressort cependant que les mécanismes intimes de la transformation lymphoblastique nous échappent encore.

. o o

SIGNIFICATION DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE *****

Si le phénomène de transformation lymphoblastique apparaît, dans certains cas, avec la PHA surtout, comme une propriété générale du petit lymphocyte, l'action spécifique de certains antigènes permet d'affirmer qu'il s'agit là d'une réaction immunologique très générale.

Et ce d'autant plus que ces cellules blastiques observées in vitro rappellent en tous points la gran-

de cellule blastique hyperbasophile, au volumineux noyau nucléolé que l'on retrouve dans les ganglions satellites, après une injection d'antigène entraînant une hypersensibilité humorale ou cellulaire, mais aussi lors du rejet de greffe.

L'immuno-compétence du petit lymphocyte constitue maintenant un fait établi : il représente donc la cellule "mémoire" de toutes les stimulations antigéniques antérieures.

Que met donc en évidence
le test de transformation lymphoblastique ?

Deux chapitres ne sont plus maintenant contestés.

1/- L'histo-compatibilité, d'abord.

L'importance de la transformation blastique des cultures mixtes de lymphocytes est d'autant plus grande que l'histo-compatibilité est mauvaise et les expériences quotidiennes de greffes ont confirmé que le test de transformation blastique constituait l'un des tests les plus sensibles d'histo-compatibilité.

2/- L'hypersensibilité retardée.

Rappelons d'abord la parfaite corrélation entre l'intensité des intra-dermo-réactions à la tuberculine et le taux de cellules blastiques obtenu au contact de cette même tuberculine (PEARMAN et MILLS).

Nous avons déjà cité l'effondrement de la transformation sous PHA, dans les maladies anergisantes où tous les tests d'hypersensibilité retardée (DNCB, intra-dermos) sont diminués, voire négatifs.

On sait enfin que le test de transformation blastique s'est avéré positif dans certaines hyper-

sensibilités retardées médicamenteuses ou toxiques (streptomycine, pénicilline, sulfamides, antrone, etc.).

3/- L'hypersensibilité humorale,
par contre, demeure l'objet de résultats contradictoires.

En effet, si HALPERN et KY ont observé des taux de transformation significatifs au cours d'allergies médicamenteuses de type humoral, de nombreux auteurs n'ont pas retrouvé ces faits ou ont estimé les chiffres trop faibles pour être significatifs.

Les fonctions du lymphocyte dans l'hypersensibilité immédiate sont un problème d'actualité.

1/- Secrète-t-il des immuno-globulines ?

Si cette fonction, qui était classiquement le propre du plasmocyte, a pu être retrouvée chez les cellules blastiques en culture, il semble prouvé, maintenant que le lymphocyte, même à l'état de repos, en est également capable, en très faible quantité, il est vrai.

2/- Quels rapports a-t-il avec les plasmocytes ?

Les expériences de transfert passif de cellules lymphoïdes en chambre millipore, suivi de stimulation antigénique, ont prouvé de façon absolue que certains lymphocytes se transforment en cellules blastiques qui, après une dizaine de mitoses, aboutissent au plasmocyte.

3/- Est-il enfin la cellule mémoire de l'hypersensibilité avec anticorps circulants ?

Les transferts de cellules lymphoïdes sensibilisées à un antigène sur un animal probablement irradié en ont apporté la preuve.

= De façon plus générale, une tendance uniciste semble regrouper les deux types d'hypersensibilité.

Toute réponse secondaire se traduirait par une transformation blastique des lymphocytes.

Seul varierait le pourcentage de cellules transformées :

- dans l'hypersensibilité cellulaire, le taux serait élevé et pourrait donc être apprécié in vitro par le test de transformation lymphoblastique ;

- dans l'hypersensibilité humorale, par contre, le taux de cellules transformées demeurerait très faible et ne pourrait donc être décelé in vitro.

Bien qu'il ne s'agisse là que d'une hypothèse, elle a le mérite de regrouper l'ensemble des faits expérimentaux.

III - LE TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRÉSENCE D'ANTIGÈNES THYROÏDIENS

MATERIEL

Après avoir débuté en ne retenant que les sujets porteurs d'anticorps antithyroïdiens recherchés systématiquement dans la population d'un hospice, nous avons élargi secondairement cette étude à toutes les affections thyroïdiennes que nous eûmes l'occasion de pouvoir étudier.

Il ne s'agit donc nullement d'un échantillonnage homogène d'une population normale ou d'un ensemble de maladies thyroïdiennes.

L'ensemble de l'étude porte sur 52 sujets, après avoir éliminé les premiers résultats ininterprétables du fait de lyses cellulaires liées :

- soit aux contaminations bactériennes,
- soit surtout à une concentration trop élevée d'antigène : en effet, parmi les nombreux problèmes techniques que soulève la transformation lymphoblastique, il faut insister sur la concentration de l'antigène qui :

trop dilué, n'entraîne aucun effet blastogénique,

trop concentré, conduit à une lyse totale des lymphocytes après quatre jours de culture.

Sur les 52 patients étudiés :

- 19 étaient atteints d'une affection thyroïdienne ou porteurs d'anticorps à un taux franchement élevé.

Il existait :

- 7 myxoedèmes évidents,
- 4 maladies de Hashimoto ; l'une était associée à une maladie de Horton, une autre s'accompagnait d'un syndrome de Raynaud avec caryoglobulinémie,
- 1 thyroïdite lymphocytaire de l'enfant,
- 1 anémie de Biermer,
- 2 hyperthyroïdies, comprenant :
 - . une maladie de Basedow traitée,
 - . un adénome toxique.

Parmi les 34 témoins sans anticorps, il existait :

- 26 sujets normaux,
- 3 lupus érythémateux,
- 1 dermato-myosite,
- 1 syndrome de Wegener,
- 2 polyarthrites chroniques évolutives,
- 1 syndrome de Gougerot-Sjögren,
- 1 hépatite primitive chez une femme jeune.

RECHERCHE DES ANTICORPS

La recherche des anticorps fut effectuée par la méthode de l'hémagglutination indirecte suivant la technique de DONIACH.

Secondairement, il fut effectué une immunofluorescence indirecte qui devait s'avérer beaucoup moins sensible et plus difficile à interpréter que l'hémagglutination.

TECHNIQUE DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

Notre méthode est sensiblement identique à celle d'OSGOOD, reprise par HALPERN depuis 1966 :

Après un prélèvement aseptique d'environ 15cc

sur une demi-ampoule d'héparinate de calcium, le sang sédimente pendant une heure à l'étuve dans un tube à essai incliné à 45°.

La plus grande partie du plasma est recueillie par aspiration, le plus près possible de la limite de sédimentation.

Ce plasma riche en leucocytes est ensuite filtré sur une colonne de laine de verre haute d'environ trois centimètres sur deux de diamètre : on élimine ainsi les polynucléaires de la culture finale.

Le filtrat est ensuite dilué dans trois volumes de milieu 199 modifié de l'Institut Pasteur.

C'est alors seulement qu'est adjoint l'antigène thyroïdien et un mélange de pénicilline-streptomycine (1 million, 0,50 g), dilué de manière à obtenir 100 unités de pénicilline par centimètre cube de culture finale, pour limiter les conséquences d'éventuelles souillures bactériennes.

Chaque tube à essai contenant 3 cc du mélange est laissé quatre jours à 37°.

On recueille le culot de sédimentation dont on fait un étalement que l'on colore par le May-Grunwald-Giemsa.

Les antigènes :

Pour chacun des sujets étudiés, nous avons effectué :

1/- Un tube témoin ne contenant ni antigène ni antibiotique.

2/- Un tube témoin contenant seulement l'antibiotique, afin de ne pas méconnaître une éventuelle allergie à la pénicilline ou à la streptomycine (La pénicilline ne serait blastogénique, d'après HALPERIN, que pour des concentrations supérieures à 1.000 uni-

tés par cc.).

3/- Un contrôle par la phyto-hémagglutinine DIFCO à la dose de 3 μ par cc., s'est avéré nécessaire, d'autant plus qu'un grand nombre de sujets étudiés étaient des vieillards chez lesquels les taux de transformation blastique sont parfois globalement diminués.

4/- Les antigènes thyroïdiens furent de trois types :

- Un extrait lyophilisé de thyroïde de boeuf (Jean ROY), utilisé à la concentration optimale de 100 Y pour 3 cc. de milieu final.

- Un extrait thyroïdien humain, obtenu par broyage d'un pool de thyroïdes humaines prélevées au cours d'autopsies précoces. Après homogénéisation (Appareil M.S.K.), l'extrait est filtré sur millipore (0,4 μ) et conservé ensuite à -20°. Finalement, 0,1 cc d'une solution au 1/1.000e sont utilisés pour 3 cc de milieu final.

- Le dernier antigène utilisé fut la thyroglobuline humaine extraite selon la méthode de ROITT et CAMPBELL (Biochem. J. 69, 248, 1958) par précipitation par le sulfate d'ammonium. La concentration optimale fut de 0,1 cc d'une solution au 1/1.000e par cc. de culture.

EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés dans les trois tableaux suivants :

- Le premier, regroupant les sujets présentant des anticorps anti-thyroïdiens à un taux au moins égal au 1.250e, que la transformation blastique soit positive ou négative ;

- Le second contient les transformations positives malgré l'absence d'anticorps ;

- Le dernier, les 11 sujets atteints d'une maladie quelconque, mais ne présentant ni anticorps ni transformation blastique.

Nous n'avons tenu compte que des taux de transformation supérieurs à 4 %.

Conventionnellement :

- + représente une transformation comprise entre 4 et 10 %,
- ++ représente une transformation comprise entre 10 et 15 %,
- +++ lorsqu'elle est supérieure à 15 %.

T A B L E A U I

NOM	AGE	CLINIQUE	HEWAG- GLUTINATION	IMMUNO-FLUORESCENCE		TRANSFORMATION BLASTIQUE	
				Tissulaire	Colloïdale	E.T. BOËUF E.T. HUMAIN	THYROGLOBUL.
MAS...	84	Myxoedème	> 1/2500	++	++	+	Non fait
DUC...	75	Myxoedème	1/2500	+	+	0	Non fait
RIC...	76	Myxoedème	1/2500	+	++	+	Non fait
CHA...	65	Myxoedème	1/2500			0	0
ROT...	15	Hashimoto	1/2500			0	0
ROV...	25	Hashimoto	1/2500			+	0
PER...	50	Hash.+ Hort.	1/250			0	0
LET...	9	Th. Lymph.	1/2500			+	0
LEC...	70	RAS	1/25000	+	+	0	Non fait
GUI...	78	RAS	1/250	+	+	0	Non fait

LEB...	75	RAS	1/250	-	+	+	0	Men faio
SEM...	80	RAS	> 1/2500	0	0	0	0	0
DEC...	79	Biermer	1/2500	-	+	0	+	+
Sub...	30	Ad. tox.	1/250	-	+	0	+	0
LEB...	88	Goitre	1/250	0	0	0	0	0
SEM...	80	RAS	> 1/2500	0	0	0	0	0

T A B L E A U II

ANTICORPS ABSENTS - TRANSFORMATION POSITIVE

NOM	AGE	CLINIQUE	HEMAG- GLUTINATION	IMMUNO-FLUORESCENCE Tissulaire, Colloïdale E.T. BOEUF	TRANSFORMATION PLASTIQUE E.T. GAGNIN-THORON-LECL.
GUI...	78	RAS	1/25	+	0 +
BER...	75	RAS	1/5	(A)	0 ++
DEN...	81	RAS	?	+	0 ++
BUC...	35	Baséon	0	Non fait	0 Lysé ++
MAI...	48	Σ de Raynaud	0	Non fait	0 ++
BER...	45	Σ de Raynaud	?	Non fait	0 +

TABLEAU III

PAS D'ANTICORPS - PAS DE TRANSFORMATION BLASTIQUE

NOM	AGE	SIGNES CLINIQUES	HEMAGGLUTINATION	Taux de TRANSFORMATION SOUS PHA
RIC...	40	Hépatite	0	50 %
CAN...		Dermato-myosite	0	Lyse
COU...	79	Myxoedème + K sein	1/5	< 20 %
BEA...		Hashimoto Hypothyroïdie Gougerot-Sjögren	0	≤ 30 %
FAB...		Lupus	0	43 %
FRE...		Lupus	0	Lyse
BOL...		Lupus	0	Lyse
PRO...		Wegener	0	25 %
CHA...		Myxoedème	0	Lyse
LEF...		Myxoedème	1/5	35 %
FIC...	55	P.C.E.	0	40 %

INTERPRETATION DES RESULTATS

Des tableaux précédents, il ressort :

1/- que le taux de transformation blastique, souvent positif lorsqu'il existe un taux élevé d'anticorps, ne présente cependant aucun parallélisme strict avec eux.

2/- qu'il n'est pas rare, au contraire, de constater de façon isolée :

- la présence d'anticorps : 3 fois,
- ou de transformation blastique : 5 fois.

3/- que la transformation blastique pouvait être positive dans certaines affections n'ayant apparemment aucun rapport avec la thyroïde :

- deux cryoglobulinémies avec syndrome de Raynaud, par exemple.

4/- Ce test s'est avéré constamment positif dans les thyroïdites de Hashimoto, à l'exception d'un cas dont le diagnostic ne reposait d'ailleurs que sur la clinique.

5/- Dans le myxoedème de l'adulte, par contre, le test fut positif 3 fois sur 7, mais les 4 cas négatifs étaient de grands vieillards dont la transformation sous phyto-hémagglutinine était elle-même effondrée (l'un était atteint d'un cancer du sein métastaté).

6/- Quant aux hyperthyroïdies, le petit nombre des sujets étudiés interdit toute conclusion.

Notons cependant qu'une maladie de Basedow, traitée à deux reprises par l'Iode 131, eut une transformation blastique légèrement positive, sans que l'on puisse mettre en évidence des anticorps six mois après la dernière irradiation.

CRITIQUES DE LA METHODE

= Pour des raisons techniques, il nous fut impossible d'effectuer une dilution en fonction de la teneur en lymphocytes du filtrat après passage sur laine de verre : il est incontestable que cette lacune expose à la négativation de certains résultats par dilution insuffisante, par exemple.

Il est, d'autre part, tout à fait concevable qu'il se produise dans la transformation blastique des phénomènes de zones par analogie avec les réactions par anticorps circulants.

= Les résultats obtenus avec les extraits thyroïdiens animaux et humains méritent quelques réserves :

- L'existence d'une spécificité d'espèce pour la thyroglobuline est bien connue dans les réactions avec anticorps circulants. La positivité obtenue parfois avec l'extrait thyroïdien de boeuf ne pourrait s'expliquer qu'en admettant l'existence de sites antigéniques non spécifiques d'espèce :

- . sur la thyroglobuline,
- . ou dans le tissu thyroïdien n'étant extériorisés que par l'hypersensibilité retardée ?

- L'utilisation enfin d'extrait thyroïdien humain soulève le problème de l'histo-compatibilité : on peut, en effet, admettre que, malgré la filtration sur millipore, des débris de cellules lymphoïdes situées dans la thyroïde puissent avoir une action blastogénique sur d'autres lymphocytes : deux arguments permettent de supprimer cette critique :

1- les cellules lymphoïdes broyées et filtrées (0,4 μ) ont un pouvoir blastogénique très faible.

2- le grand nombre de témoins négatifs ne correspond nullement aux chances d'histo-compatibi-

lités de deux populations de lymphocytes, prises au hasard.

PARTICULARITES DE L'HYPERSENSIBILITE CELLULAIRE THYROÏDIENNE

Si l'inhibition de la migration des macrophages, la numération des basophiles dans "les fenêtres cutanées" et enfin la transformation lymphoblastique viennent prouver le rôle important joué par l'hyper-sensibilité retardée dans l'auto-immunisation thyroïdienne, il reste le problème de la constante négativité des intra-dermo-réactions, du moins chez l'homme.

Faut-il admettre l'existence d'anticorps "bloquants", capables d'inhiber localement l'antigène thyroïdien, interdisant ainsi la réaction cutanée ?

Cette question demeure actuellement sans réponse.

CONCLUSIONS

Si de nombreux travaux ont été consacrés à la recherche des anticorps circulants dans les maladies auto-immunes, peu ont été effectués sur l'étude de la transformation lymphoplastique des lymphocytes en présence de l'antigène estimé responsable.

Citons cependant les résultats positifs obtenus dans l'anémie de Biermer, le lupus érythémateux, la sclérose en plaques.

Nous avons, dans ce travail, appliqué ce test aux phénomènes d'auto-immunisation thyroïdienne sous ses différents aspects, en utilisant successivement comme antigène :

- un extrait thyroïdien animal,
- un extrait thyroïdien humain,
- et enfin de la thyroglobuline humaine purifiée.

Dans la mesure où l'on admet que le test de transformation lymphoplastique est le témoin d'une hypersensibilité cellulaire, l'importance et la fréquence des taux de transformation obtenus permettent de conclure que cette hypersensibilité joue un rôle fondamental dans l'auto-immunisation thyroïdienne humaine.

1)- Cette transformation ne présente pas de parallélisme strict avec le taux des anticorps circulants.

2)- Sur l'ensemble des cas étudiés, nous avons pu constater :

- que le test était franchement positif pour quatre des cinq maladies de Hashimoto étudiées;

- la positivité était beaucoup moins franche et parfois absente pour les myxoedèmes acquis de l'adulte; mais il convient de remarquer qu'il s'agissait de vieillards où l'hypersensibilité retardée (intra-dermo-réaction à la tuberculine, test au dinitrochlorobenzène, transformation lymphoblastique en présence de phyto-hémagglutinine) était souvent déprimée.

- Quelques sujets porteurs d'anticorps anti-thyroïdiens, sans manifestation clinique, eurent une transformation lymphoblastique légèrement positive.

- Quant aux hyperthyroïdies, le petit nombre de cas étudiés ne nous permet pas de conclure.

- Le test fut enfin quelquefois positif, en dehors de toute atteinte thyroïdienne clinique ou sérologique, mais le taux de transformation était alors très faible.

3)- Après avoir constaté l'importance de l'hypersensibilité cellulaire dans la genèse de l'auto-immunisation thyroïdienne, il restera maintenant à préciser les caractères de cette antigénicité en utilisant des activateurs spécifiques de la transformation blastique plus précis :

- fraction microsomiale,

- fraction de thyroglobuline, constituants de la colloïde...

Ainsi pourra-t-on sans doute progresser dans la compréhension des mécanismes et des causes de l'auto-immunisation thyroïdienne.

VU & PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur
de l'Académie de Paris,
J. ROCHE

Le Doyen de la Faculté
de Médecine,
G. BROUET

Le Président
de la thèse,
F. SIGUIER

B I B L I O G R A P H I E

- 1- ANDERSON J.R.- Br. Med. Bul., 1963, I, 19-25.
- 2- BEIERWALTES W.H.- Ann. New-York Acad. Sci. 1965, 124, 596-604.
- 3- BERTHAUX P., BOUCHON J.P., DEVILLECHABROLLE A.-
Communication au 7e Congrès International de
Gérontologie, Vienne, Juin 1966.
- 4- BUCHANAN W.W., ANDERSON, GOUDIE - Lancet, 1958,
2, 928.
- 5- CAVALLERO P.- La Presse Médicale, 1-1-1966, 74.
- 6- COOPER E.H., AMIEL J.L.- Rev. Fr. d'Etudes Clin.
et Biol. 1965, 10, 4, 69.
- 7- DAVIES F., WAKSMAN B.H.- Arthr. and Rheum. 1961,
4, 416.
- 8- DONIACH D., HEH JONES - Greffe et auto-immunité.
1965, Hermann.
- 9- DOUGLAS C.- Blood J. Hematol. 1965, 26, 5, 569-
578.
- 10- ELVES M.W.- The Lymphocyte. 1960, Lloyd Ltd.,
Londres.
- 11- EVAN M., HERSH, JULES E., HARRIS - The Journal
of Immunology, Juin 1962, 100, N° 6.

- 12- FLAY M.M., BILLOTE J.B.- Am. N.Y. Science 1965,
124-234.
- 13- FORBES I.J.- Lancet 1965, 1, 198.
- 14- FREI P., CRUCHAUD S.- Helv. Med. Acta Suppl.1966,
46, 161.
- 15- HALPERN B.N., KY N.T.- La Presse Médicale, 25-
2-1967, 75, 10, 461-465.
- 16- HAROLD J., SOBEL - Ann. Journal of Path. 1964,
vol. 45, n° 2.
- 17- JAMES E.M., GUIGAN - Journ. of Clin. Invest.,
Juin 1967, p. 1094.
- 18- JOOST J., OPPENHEIM BRIGID G.- Journ. of Immuno-
logy 1962, 101, 263-270.
- 19- KITE J.H., ARGUE H., RODE N.R.- Clin. Exp. Immu-
nology 1966, 1, 139-157.
- 20- KYRIAKOS - Lab. Investigation, Nov. 1967.
- 21- LANVIK J.V.- Journal Haematol. Scand. 1968, 5,
278-286.
- 22- LING N.R.- Brit. J. Exp. Path. 1965, 46.
- 23- MILLS J.A.- Journal of Immunology, Août 1966,
97, 239.
- 24- PATRUCCO A.- Arthritis Rheum. 1967, 10, 32.
- 25- RABINOWITZ Yale - Blood 1964, 23, 811-828.
- 26- ROBBINS J.M.- Science 1964, 146-148.
- 27- ROITT I.M., DONIACH D., HUDSON - Lancet 1956, 11,
820.
- 28- ROITT I.M., DONIACH D. - Brit. Med. Bul. 1960,
16, 152.

- 29- ROITT I.M., TORRIGIANI - Immunology, Nov. 1968,
15, 5, 681.
 - 30- ROSE N.R., KITE J.H.- Ann. N.Y. Acad. Sci. 1965,
124, 201.
 - 31- ROSE N.R., SKELTON - Clinical and Exp. Immunolo-
gy, Nov. 1967.
 - 32- SARKANY I.- Lancet, 1964, 1264, 4, VI.
 - 33- SCAZZIGA B.R.- Helv. Med. Acta Suppl., 1967, 46.
 - 34- SCHLOSSMAN S.F.- New-England Journal of Medicine,
21 Déc. 1967, 277.
 - 35- SØBORG, HALBERG P.- Acta Med. Scand. 1968, vol.
183.
 - 36- STEWART S. M.D.- Journal of Exp. Med., Mars 1967,
393-400.
 - 37- TERPLAN K.L., WITEBSKY E.- Ann. Jour. Path. 1960,
36, 213-239.
 - 38- WILLIAMS E.D., DONIACH D.- J. Path. Bact. 1962,
83, 255-260.
 - 39- WITEBSKY E., ROSE N.R. - J.A.M.A. 1957, 164,
1439-1447.
 - 40- WOLF-JURGENSEN, HALBERG P.- Acta Allerg. 1965,
20, 432.
 - 41- ZAVALETTA A., STASTNY P.- Clin. Exp. Immunology
1967, 2, 543-548.
-

